⑮ 419-421

动 物 学 研 究 2000, Oct. 21 (5): 419~421
Zoological Research

CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

Q959.52
Q954.432

山溪鲵卵巢滤泡细胞的显微与超微结构

MICROSTRUCTURE AND ULTRASTRUCTURE OF OVARIAN FOLLICULAR CELLS IN LITTLE SALAMANDER, *Batrachuperus pinchonii*

贾林芝 张育辉

关键词：山溪鲵；卵巢；滤泡细胞；显微结构；超微结构

Key words: *Batrachuperus pinchonii*; Ovary; Follicular cell; Microstructure; Ultrastructure

中图分类号：Q959.5⁻2 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2000)05-0419-03

对两栖类卵巢滤泡细胞的研究已有一些报道。Thornton 等（1973）用电镜观察比较了蟾蜍（*Bufo bufo*）的成熟滤泡细胞和排卵后滤泡细胞，认为两栖类没有膜细胞和颗粒细胞的分化。Dumont 等（1978）较为系统地观察并描述了光滑爪蟾（*Xenopus laevis*）卵泡壁的超微结构。Kwon 等（1994）对黑斑蛙（*Rana nigromaculata*）卵巢组织细胞的离体培养研究表明，其类固醇激素的生成是在卵泡壁上完成的，并提出了两栖类卵泡类固醇生成的两类细胞模型。但目前有关有尾两栖类滤泡细胞结构与功能的研究仍少见。本文以有尾目、小鲵科的山溪鲵（*Batrachuperus pinchonii*）为材料，对其卵巢滤泡细胞的显微与超微结构进行观察，探讨滤泡细胞与卵母细胞发育之间的关系，旨在丰富和完善两栖类生殖内分泌学研究的内容，并为山溪鲵的繁殖、资源保护与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 采于陕西省周至自然保护区的成体雌性山溪鲵（1998 年 4~9 月），共 12 尾，体重 10~31 g，体长 68~115 mm。

1.2 样品制备 活体剖腹，取出卵巢。光镜样品切成约 1 cm^3 的小块，Bouins' 液固定，常规石蜡切片，切片厚 8~15 μm，H.E 染色，光镜下观察，测量细胞核的大小，摄影。电镜样品迅速切成约 1 mm^3 的小块，置 2.5% 戊二醛中固定，较大的卵母细胞待固定 1 h 后取出再切成 1 mm^3 左右的小块继续固定，1% 锇酸后固定；常规脱水，Epon812 包埋、Nova 机超薄切片，醋酸双氧铀－枸橼酸铅双染，日立 H-600 型电子透射显微镜观察，摄影。

2 结 果

2.1 山溪鲵卵泡壁的结构 与其他两栖类的卵巢结构相似，山溪鲵的卵巢也有两层上皮。内、外两层卵巢上皮之间是分散的卵原细胞、滤泡细胞和不同发育时期的卵泡。在两层上皮间、滤泡细胞与内层上皮间还分布着疏松结缔组织和血管（图版Ⅰ：5，7）。山溪鲵的正常卵泡壁由内层上皮细胞、滤泡细胞和卵黄膜组成（图版Ⅰ：3、4；版Ⅱ 11）。

2.2 滤泡细胞的显微结构 卵黄生成前，因卵原细胞处于增殖期，滤泡细胞散在于卵原细胞之间，细胞呈椭圆形，直径约 13 μm；核圆形，胞质嗜碱性（图版Ⅰ1）。

卵原细胞进入第 1 次成熟分裂的前期，成为初级卵母细胞，细胞质增多，核仁出现于核膜下。此时的滤泡细胞已包围卵母细胞形成卵泡。滤泡细胞扁平，核呈杆状，长径约 18 μm，短径约 3 μm。（图版Ⅰ2）。

卵黄生成期的早期，卵黄膜出现并逐渐增厚，卵母细胞皮质内已经有少量的卵黄颗粒积累。这时的滤泡细胞略呈立方形，排列紧密，核圆形，直径约 5 μm。胞质弱嗜酸性（图版Ⅰ3）。卵黄生成期的晚期，卵母细胞体积急剧增加，成熟卵黄小板开始形成并大量积累。此时的滤泡细胞形状恢复扁平，核呈椭圆形，长径约 13 μm，短径约 8 μm。胞质弱嗜酸性（图版Ⅰ4）。在卵黄生成期即将结束时，卵黄膜逐渐退化。

2.3 滤泡细胞的超微结构 卵黄生成前的卵母细胞，胞突极少，皮质内没有吞饮小泡或溶酶体（图版Ⅰ5）。此时，滤泡细胞的边缘胞突很少。胞核边缘也较为整齐。胞质较少，有大而透亮的脂滴，其他细胞器不甚发达（图版Ⅰ5）。

在卵黄生成期的早期，卵母细胞的胞突逐渐变得长而密集（图版Ⅰ7；版Ⅱ8），皮质内有溶酶体（图版Ⅰ7）。此时，滤泡细胞之间的突起形成胞间连接，其两侧的膜上有大量微丝相连，膜间隙较大，是典型的桥粒（图版Ⅰ6）。胞核边缘整齐，细胞质内脂滴丰富、透亮（图版Ⅱ8）。随着卵母细胞的发育，滤泡细胞内出现滑面内质网和较多的管状嵴线粒体（图版Ⅱ9），粗面内质网也较发达，还有丰富的糖原颗粒，脂滴少见（图版Ⅰ6）。

在卵黄生成期的晚期，卵母细胞内积累了大量的成熟

收稿日期：2000-01-17；修改稿收到日期：2000-04-07

卵黄小板后，其胞突逐渐从卵黄膜中缩回（图版Ⅱ11）。此时滤泡细胞与卵母细胞间的突起形成胞间连接，此连接两侧的膜上无微丝相连，膜间隙很小，为缝管连接（图版Ⅱ13）。滤泡细胞核呈椭圆形，有的核边缘出现缺刻。细胞质丰富，其中有高尔基复合体、少量的溶酶体和丰富的管状嵴线粒体，粗面内质网较为发达（图版Ⅱ：10～12）。在滤泡细胞靠近卵母细胞处，微丝丰富，成束平行排列（图版Ⅱ13）。有的滤泡细胞中还出现中等电子密度的颗粒，其电子密度与脂滴不同，同样的颗粒在与滤泡细胞紧贴的上皮细胞中也常存在，并见到溶酶体与此类颗粒靠近（图版Ⅱ11）。

3 讨 论

3.1 滤泡细胞的类固醇合成功能 本文观察可见，山溪鲵滤泡细胞具有类固醇合成与分泌的典型特征。

在整个卵黄生成期，滤泡细胞具有典型的管状嵴线粒体和滑面内质网，脂滴随滤泡细胞的发育而减少，说明滤泡细胞的合成功能逐渐旺盛（Thornton 等，1973）。这是类固醇合成细胞的典型特征。

方永强等（1995）在文昌鱼（*Branchiostoma belcheri*）滤泡细胞超微结构的研究中提到：类固醇合成细胞的另一特点是有发育良好的高尔基复合体和管状粗面内质网，如同哺乳类的颗粒细胞。山溪鲵的滤泡细胞也具有这些特征，它与哺乳类颗粒细胞相似。

3.2 滤泡细胞与卵母细胞发育的关系 在山溪鲵滤泡细胞的发育过程中，脂滴的减少，典型管状嵴线粒体、高尔基复合体、滑面内质网与粗面内质网均见于卵黄生成期内。此时，卵母细胞内卵黄颗粒的积累和成熟卵黄小板的出现，表明卵母细胞正在进行卵黄生成。提示在卵黄生成之前，滤泡细胞并不具有很强的类固醇合成功能，只有到卵黄生成时，滤泡细胞合成类固醇的功能才开始旺盛。

在黑斑蛙不同大小卵泡的离体培养中发现，中等大小的卵泡主要产生雌二醇，最大的卵泡主要产生孕酮（Kwon 等，1991）。张育辉（1998）曾测定了大鲵不同时期的血清雌二醇含量，并观察了相应滤泡细胞的结构，认为大鲵的滤泡细胞与卵黄形成时雌二醇的分泌相关。对山溪鲵，也观察到滤泡细胞的类固醇合成与分泌功能随着卵母细胞的发育而旺盛的情形。雌二醇的主要功能之一是刺激肝细胞合成卵黄前物质（李远友等，1998）。推测山溪鲵滤泡细胞在卵黄形成时合成并分泌雌二醇，刺激肝细胞产生卵黄前物质，促进卵母细胞的卵黄形成。

3.3 滤泡细胞的其他功能 方永强等（1995）在文昌鱼滤泡细胞中观察到大量的微丝。微丝具有收缩功能，在有 Ca^{++} 和 ATP 存在的条件下，当膜上受体与相应配体结合时，可引起微丝收缩。故推测文昌鱼滤泡细胞内的微丝与产卵有关。同样的结果也在刺参（*Stichopus californicu*）上被验证，即用细胞松弛素 B 处理，刺参就停止排卵。本观察注意到山溪鲵仅在卵黄生成后期，滤泡细胞中才出现大量的微丝。微丝的收缩可改变滤泡细胞的形状，从而促进排卵，其具体机制有待进一步研究。

在卵母细胞发育中，外源的卵黄物质如何通过滤泡细胞进入卵母细胞？通常认为由卵母细胞的胞突通过吞饮作用完成。Browne 等（1984）用电镜观察以荧光染色剂处理过的光滑爪蟾（*Xenopus laevis*）卵泡，认为滤泡细胞与卵母细胞间的连接是缝管连接。缝管连接可进行代谢耦联、交换营养物质、中间代谢产物和调节分子，故可能与两者间的发育信息传递有重要的关系。在山溪鲵卵泡壁的超微结构中，同样发现滤泡细胞与卵母细胞的胞突间有此种连接，推测滤泡细胞将从毛细血管中吸收的外源物质经溶酶体加工，其中一部分通过胞突间的缝管连接传递给卵母细胞。滤泡细胞还可对将要进入卵母细胞的物质进行筛选，以减少卵母细胞的负担（于豪建，1984）。滤泡细胞内的溶酶体则是与此功能相关的细胞器。

图 版 说 明

Ca：毛细血管（capillary）；D：桥粒（desmosome）；EC：上皮细胞（epithelium cell）；FC：滤泡细胞（follicular cell）；Fi：微丝（filament）；G：高尔基复合体（golgi complex）；g：颗粒（granule）；g→：糖原（glycogen）；J：缝管连接（gap junction）；L：脂滴（lipid）；Ly：溶酶体（lysosome）；Mi：线粒体（mitochondria）；N：细胞核（nucleus）；Nu：核仁（nucleolus）；OO：卵母细胞（oocyte）；OG：卵原细胞（oogonia）；Pr：胞突（cytoplasmic processes）；RER：粗面内质网（rough endoplasmic reticulum）；SER：滑面内质网（smooth endoplasmic reticulum）；VE：卵黄膜（vitellin membrane）；VG：卵黄颗粒（vitellin granule）；YP：卵黄小板（yolk platelet）。

1. 卵原细胞和滤泡细胞（oogonia and follicular cell）×528
2. 卵黄生成前的卵泡（follicle before the vitellogenesis）×528
3. 卵黄生成早期的卵泡（follicle in the early stage of vitellogenesis）×528
4. 卵黄生成晚期的卵泡（follicle in the later stage of vitellogenesis）×528
5. 卵黄生成前，滤泡细胞内有大的脂滴（large lipid in follicular cell before the vitellogenesis）×8 000
6. 卵黄生成早期，滤泡细胞内的管状嵴线粒体，糖原颗粒、粗面内质网和滤泡细胞间的桥粒（mitochondria with tubular cristae，glycogen and endoplasmic reticulum in follicular cell，desmosome between follicular cells in the early stage of vitellogenesis）×30 000
7. 卵母细胞的胞突和溶酶体，滤泡细胞和临近的毛细血管（the cytoplasmic processes of oocyte and lysosome in oocyte，follicular cell and adjacent capillary）×8 000
8. 滤泡细胞内的脂滴（lipid in follicular cell）×5 000
9. 滤泡细胞内的管状嵴线粒体和滑面内质网（mitochondria with tubular cristae and smooth endoplasmic reticulum in follicular cell）×30 000
10. 卵黄生成晚期，滤泡细胞内的管状嵴线粒体、糖原颗粒、粗面内质网、溶酶体（mitochondria with tubular cristae，glycogen，rough endoplasmic reticulum and lysosome in follicular cell in the later stage of vitellogenesis）×25 000
11. 卵母细胞内有成熟的卵黄小板，滤泡细胞内的颗粒与上皮细胞中

的颗粒相同，溶酶体与颗粒临近（mature yolk platelet in oocyte; granules in follicular cell are similar to those in epithelium cell; lysosome are adjacent to granules）×3 000

12. 滤泡细胞内丰富的内质网、管状嵴线粒体和高尔基复合体（abundant endoplasmic reticulum, mitochondria with tubular cristae and golgi complex in follicular cell）×10 000

13. 滤泡细胞核旁的微丝束，卵母细胞的胞突，滤泡细胞和卵母细胞间的缝管连接（the bundles of microfilament near nucleus in follicular cell, the cytoplasmic processes of oocyte and the gap junction between follicular cell and oocyte）×30 000

参 考 文 献

于豪建，1984. 动物的发育[M]. 北京：人民教育出版社. 9～51.（Yu H J, 1984. The development of animal. Beijing: People's Educational Publishing House. 9－51.）

方永强，Welsch U, 1995. 文昌鱼卵巢中滤泡细胞超微结构与功能的研究[J]. 中国科学（B 辑），25（10）：1079～1085.［Welsch U, Fang Y Q, 1997. Ultrastructure and function of follicle cell in the ovary of *Branchiostoma belcheri*. *Science in China*（*Series c*）（*English Version*），40（1）：60－70.］

李远友，林浩然，沈　放，1998. 蛙类下丘脑－脑垂体－性腺轴的内分泌调节[J]. 动物学研究，19（1）：83～89.［Li Y Y, Lin H R, Shen F, 1998. Endocrine regulation of the frog hypothalamus-pituitary-gonad axis. *Zoological Research*, 19（1）：83－89.］

张育辉，1998. 中国大鲵闭锁黄体和血清雌二醇浓度的研究[J]. 陕西师范大学学报（自然科学版），26（1）：75～77.［Zhang Y H, 1998. Relation between atrestic follicle luteinization and changes of estradiol concentration of serum before ovulation in Chinese giant salamander（*Andrias davidianus*）. *J. Shaanxi Normal University*（*Natural Science Edition*），26（1）：75～77.］

Browne C, Werner W, 1984. Intercellular junctions between the follicle cells and oocytes of *Xenopus laevis*[J]. *J. Exp. Zool.*, 230: 105－113.

Dumont J N, Brummett R R, 1978. Oogeesis in *Xenopus laevis*（Daudin）V. Relationships between developing oocytes and their investing follicular tissues[J]. *J. Morphol.*, 155: 73－98.

Kwon H B, Choi H H C, Ahn R S *et al*, 1991. Steroid production by amphibian（*Rana nigromaculata*）ovarian follicles at different developmental stages[J]. *J. Exp. Zool.*, 260: 66－73.

Kwon H B, Ahn R S, 1994. Relative roles of theca and granulosa cells in ovarian follicular steroidogenesis in the amphibian, *Rana nigromaculata*[J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 94: 207－214.

Thornton V F, Evennett P J, 1973. Changes in the fine structure of the ovarian follicle of the toad（*Bufo bufo*）prior to induced ovulation[J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 20: 413－423.

贾林芝　　张育辉

JIA Lin-Zhi　ZHANG Yu-Hui

（陕西师范大学生命科学学院　西安　710062）

（*Department of Biology*, *College of Life Science*, *Shaanxi Normal University*, *Xi'an*　710062, *China*）

云南省昆虫学会第六次会员代表大会暨 2000 年学术年会召开

云南省昆虫学会第六次会员代表大会暨 2000 年学术年会于 2000 年 8 月 2 日至 4 日在云烟之乡玉溪市召开。云南省科协涂济民副主席到会祝贺并作了重要讲话，玉溪市科协、云南省植保学会和云南省生态学会派员到会祝贺。理事长熊江代表云南省昆虫学会第五届理事会做工作报告，肖宁年秘书长作“云南省昆虫学会章程”修改报告。

此次大会与会代表 97 人，共收到论文 71 篇，这些论文反映了近两年来我会会员在教学、科研、生产中取得的成果和经验。尤其是配合’99 昆明世界园艺博览会的召开所开展的园林昆虫的检疫和防治工作取得了较显著的成绩，共有 11 篇论文在会上进行了交流。会议还按农业组、林业组，医学组、基础昆虫组等分别进行了学术交流。

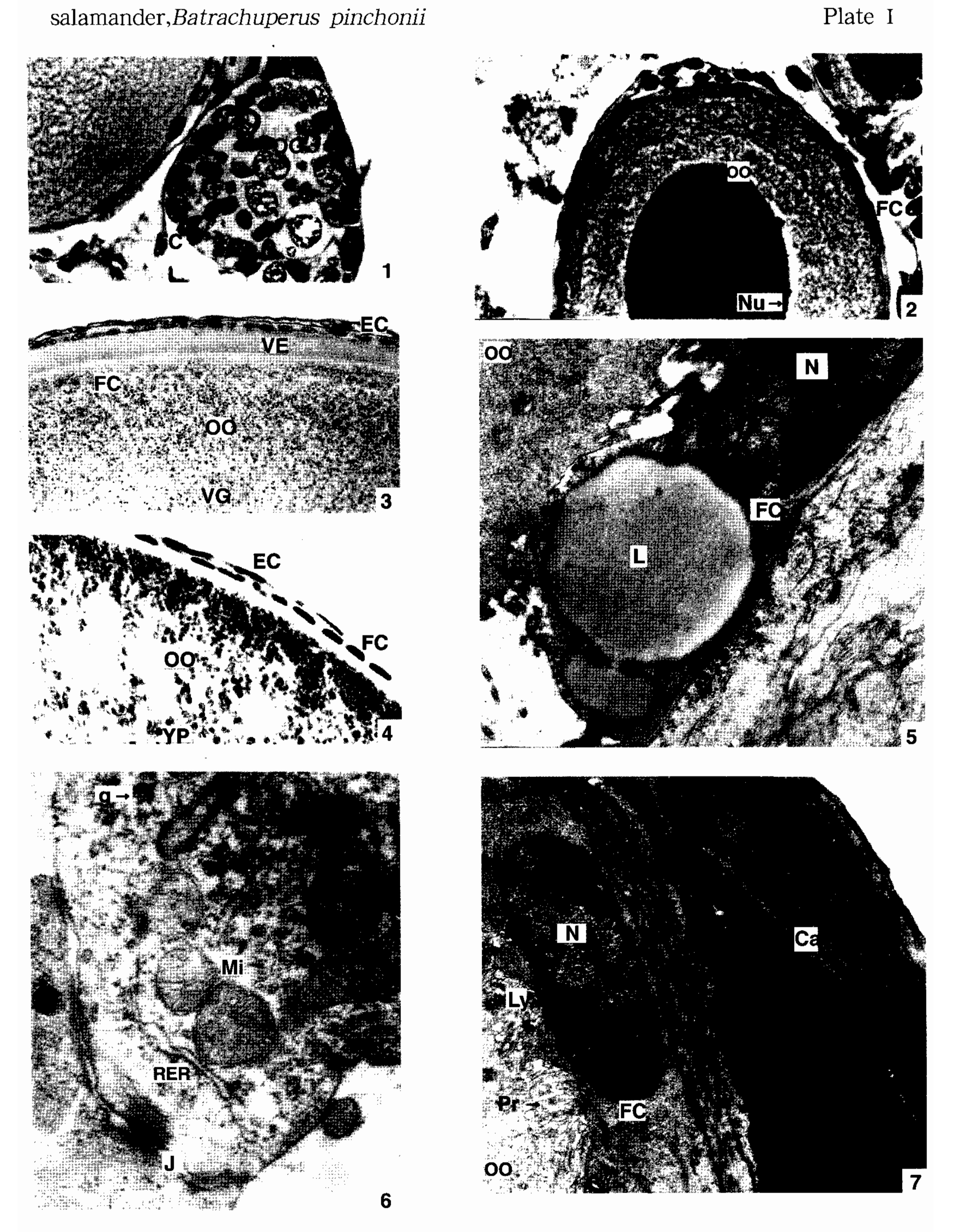
会议期间与会代表参观了国内著名企业红塔集团的玉溪卷烟厂，代表们对该厂先进的现代化设备，管理程序以及对国家所做出的巨大贡献留下了深刻印象。8 月 4 日由王履浙副理事长主持进行理事会换届选举。经代表无记名投票选举产生了云南省昆虫学会第六届理事会理事共 37 人。

同时举行云南省昆虫学会第六届理事会第一次会议，选举产生了第六届理事会常务理事 18 人。会议表决通过了《云南省昆虫学会章程》和学会财政情况报告。

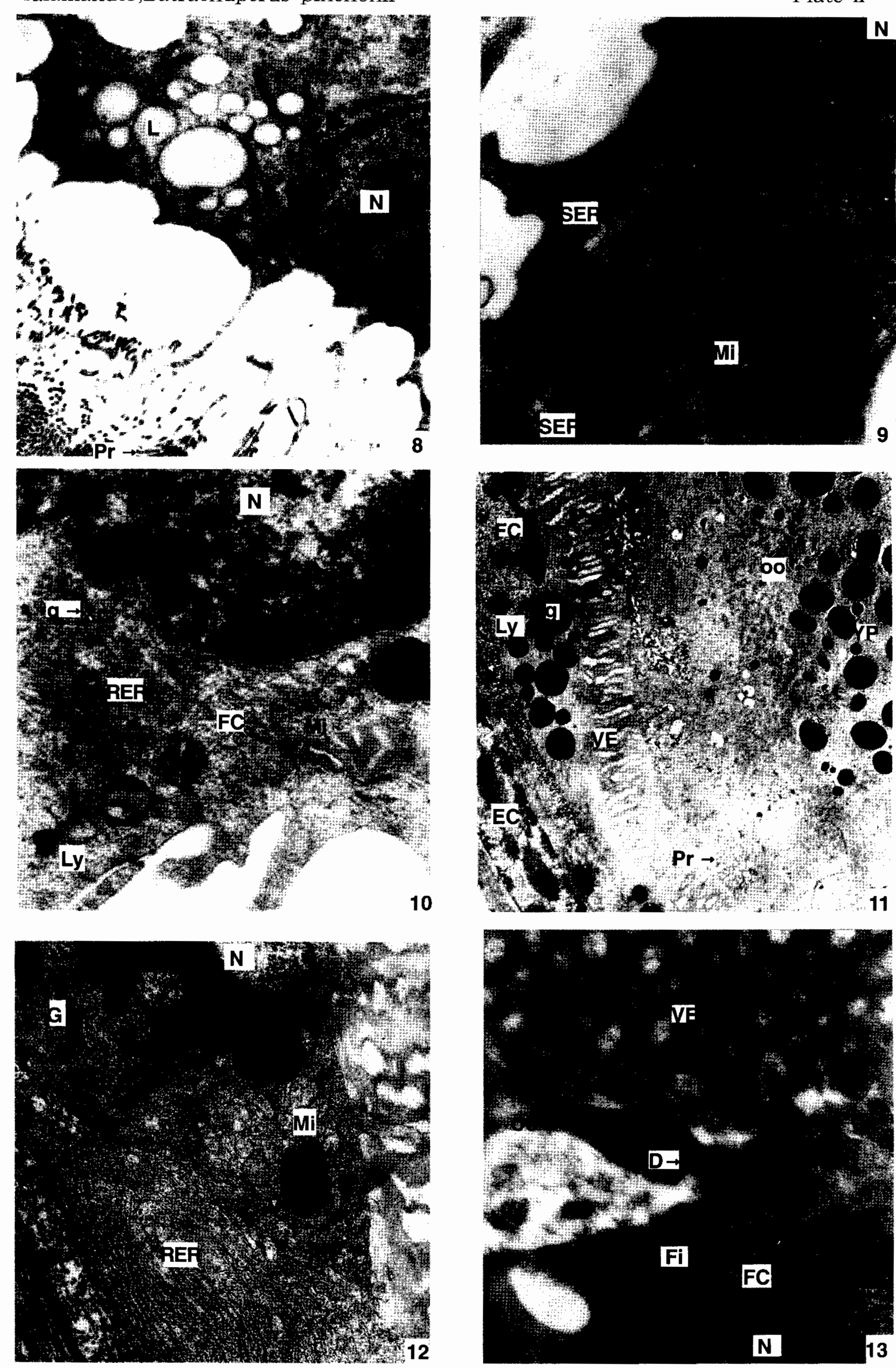
会议由新当选的况荣平理事长作会议总结。他说，此次大会由于各理事单位，尤其是云南烟草研究院的大力支持以及广大会员的积极参与，保证了大会的圆满召开和各项议程的圆满完成。新一届理事会将充分发挥理事会和广大会员的作用，团结一致，为云南绿色经济大省的建设，为昆虫学会的改革与发展作出积极的努力。

熊　江

（中国科学院昆明动物研究所　650223）



图版说明在正文内(explanation in the text)



图版说明在正文内(explanation in the text)